VITROS Chemistry Products

FEUILLET TECHNIQUE

ALT

Plaques analytiques VITROS Chemistry Products ALT

Alanine aminotransférase

REF 153 7513
165 5281

Application

Pour usage *in vitro*.

Les plaques analytiques VITROS ALT permettent d'effectuer un dosage quantitatif de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT) dans le sérum et le plasma.

Résumé et principe du dosage

L'alanine aminotransférase présente un taux d'activité élevé dans le foie, les muscles squelettiques, le cœur et les reins. Le taux sérique d'ALT augmente rapidement dans les cas de nécrose cellulaire hépatique, d'hépatite, de cirrhose hépatique, de tumeur du foie, d'ictère obstructif, de syndrome de Reye, de traumatisme étendu des muscles squelettiques, de myosite, de myocardite et d'infarctus du myocarde.[1]

Principe du dosage

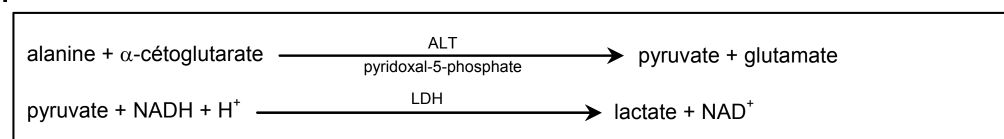
La méthode de dosage sur plaque analytique VITROS ALT est réalisée à l'aide de la plaque VITROS ALT et du jeu d'échantillons de calibrage VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 3 sur les systèmes de chimie clinique VITROS.

La plaque VITROS ALT est constituée d'un support en polyester recouvert d'un film analytique multicouche.

Une goutte d'échantillon patient est déposée sur la plaque, puis répartie uniformément par la couche d'étalement dans les couches sous-jacentes. La couche d'étalement contient les substrats de l'ALT : L-alanine et α-cétoglutarate de sodium. L'alanine aminotransférase catalyse le transfert du groupement amino de la L-alanine sur l'α-cétoglutarate pour produire du pyruvate et du glutamate. La lactate déshydrogénase (LDH) catalyse alors la conversion du pyruvate et du NADH en lactate et en NAD^+.

La vitesse d'oxydation du NADH est mesurée par spectrophotométrie de réflectance. La vitesse de modification de la densité de réflexion est proportionnelle à l'activité enzymatique.

Séquence réactionnelle



Type de test et conditions d'exécution

Type de test et conditions d'exécution pour ALT

Type de test	Système VITROS	Durée approximative d'incubation	Température	Longueur d'onde	Volume de la goutte d'échantillon
Dosage enzymatique en cinétique	5,1 FS, 950, 750, 550, 250	5 minutes	37 °C	340 nm	11 µL

Avertissements et précautions d'emploi

Pour usage *in vitro*.

Prendre les précautions d'usage lors de la manipulation de produits et d'échantillons d'origine humaine. Étant donné qu'aucune méthode de dépistage ne peut totalement garantir l'absence d'agents infectieux, considérer tous les échantillons cliniques, tous les matériaux de contrôle et de calibrage comme étant potentiellement infectieux. Manipuler les échantillons, les déchets solides et liquides, ainsi que les composants des dosages conformément à la législation locale en vigueur et à la directive M29[2] de la NCCLS (commission nationale de normes de laboratoires d'analyses médicales) ou autres directives officielles concernant le risque biologique.

Pour prendre connaissance des avertissements et précautions d'emploi concernant les échantillons de calibrage, les matériaux de contrôle et autres composants, consulter le Feuillet technique du produit VITROS correspondant ou la documentation produit du fabricant concerné.

Réactifs

Composition de la plaque

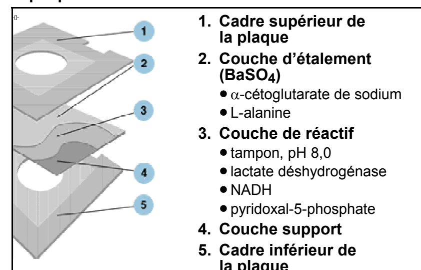
Composants actifs au cm²

Lactate déshydrogénase (muscle de porc, E.C.1.1.1.27), 0,12 U ; L-alanine, 0,86 mg ; α-cétoglutarate de sodium, 54 µg ; nicotinamide adénine dinucléotide réduit, 35 µg ; et pyridoxal-5-phosphate de sodium, 11 µg.

Autres composants

Pigment, liants, tampon, tensioactifs, agent de réticulation et stabilisant.

Schéma de la plaque



1. **Cadre supérieur de la plaque**
2. **Couche d'étalement ($BaSO_4$)**
   - α-cétoglutarate de sodium
   - L-alanine
3. **Couche de réactif**
   - tampon, pH 8,0
   - lactate déshydrogénase
   - NADH
   - pyridoxal-5-phosphate
4. **Couche support**
5. **Cadre inférieur de la plaque**

Manipulation des cartouches de plaques analytiques

ATTENTION : **Ne pas utiliser les cartouches de plaques dont l'emballage est endommagé ou n'est pas hermétiquement fermé.**

- Inspecter soigneusement l'emballage pour vous assurer qu'il n'est pas endommagé.
- Si un instrument pointu est utilisé pour ouvrir l'emballage externe, veiller à ne pas endommager l'emballage primaire des plaques individuelles.

Préparation des cartouches de plaques

IMPORTANT : *La cartouche de plaques doit revenir à température ambiante, entre 18 °C et 28 °C, avant d'être sortie de son emballage et chargée dans la réserve de plaques.*

1. Retirer les cartouches de leur lieu de conservation.
2. Laisser la cartouche, dans son emballage, revenir à température ambiante pendant 30 minutes après retrait du réfrigérateur ou 60 minutes après retrait du congélateur.
3. Retirer la cartouche de son emballage et la charger dans la réserve de plaques.

REMARQUE : Charger les cartouches dans les 24 heures qui suivent le moment où elles ont atteint la température ambiante, soit 18 °C – 28 °C.

Conservation et stabilité des plaques analytiques

Les plaques VITROS ALT sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur le carton, à condition d'être conservées et manipulées comme indiqué.

Conservation et stabilité des plaques analytiques ALT

Cartouches de plaques analytiques	Conditions de conservation		Stabilité
Non ouvertes	Réfrigérées	2 °C – 8 °C	Jusqu'à la date de péremption
	Congelées	≤ -18 °C	Jusqu'à la date de péremption
Ouvertes	À bord du système	Système en service (ON)	≤ 4 semaines
	À bord du système	Système hors-service (OFF)	≤ 2 heures

- Vérifier les performances à l'aide des matériaux de contrôle qualité :
  - Si le système est arrêté pendant plus de 2 heures.
  - Après avoir chargé des cartouches retirées de la réserve de plaques et mises de côté en vue d'une utilisation ultérieure.

Conditions requises concernant les échantillons

AVERTISSEMENT : ***Manipuler les échantillons comme tout produit biologique potentiellement contaminant.***

Échantillons recommandés

- Sérum
- Plasma : EDTA
  Héparine

IMPORTANT : *Il a été constaté que certains dispositifs de prélèvement d'échantillons biologiques affectaient d'autres analytes et d'autres dosages.* [3] *S'assurer que les dispositifs de prélèvement utilisés sont compatibles avec ce dosage.*

Échantillons non recommandés

- Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés. [4]

Sérum et plasma

Prélèvement et préparation des échantillons

Prélever les échantillons selon les techniques de laboratoire classiques. [5, 6]

REMARQUE : Pour plus de détails sur les volumes de remplissage minimum requis, se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.

Préparation du patient

- Le patient ne nécessite aucune préparation particulière.

Précautions spéciales

- Centrifuger les échantillons et séparer le sérum ou le plasma du matériel cellulaire dans les 3 jours suivant leur prélèvement. [7]

Manipulation et conservation des échantillons

AVERTISSEMENT : ***Manipuler les échantillons comme tout produit biologique potentiellement contaminant.***

- Manipuler et conserver les échantillons dans des récipients fermés afin d'éviter tout risque de contamination ou d'évaporation.
- Mélanger les échantillons par inversion douce et les laisser revenir à température ambiante, soit 18 °C – 28 °C, avant analyse.

IMPORTANT : *Ne pas congeler les échantillons.*

Conservation et stabilité des échantillons pour ALT : Sérum et plasma [7]

Conservation	Température	Stabilité
Température ambiante	18 °C – 28 °C	≤ 3 jours
Réfrigérés	2 °C – 8 °C	≤ 1 semaine
Congelés	≤ -18 °C	Non recommandé

Procédure de dosage

Matériel fourni

- Plaques analytiques VITROS Chemistry Products ALT

Matériel nécessaire, mais non fourni

- Jeu d'échantillons de calibrage VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 3
- Matériaux de contrôle de qualité tels que les échantillons de contrôle VITROS Chemistry Products Performance Verifier I et Performance Verifier II
- BSA à 7 % VITROS Chemistry Products
- Cartouche de diluant VITROS Chemistry Products FS N° 2 (BSA/Solution saline) (pour le mode dilution à bord du système)

Mode opératoire

- Vérifier les réserves de réactifs au moins une fois par jour afin de vous assurer que les quantités disponibles sont suffisantes pour réaliser la charge de travail programmée.

Pour plus d'informations, se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.

IMPORTANT : *Ramener tous les liquides et tous les échantillons à température ambiante, soit 18 °C – 28 °C, avant analyse.*

Dilution des échantillons

Sérum et plasma

Si l'activité de l'alanine aminotransférase dépasse la gamme de linéarité du système :

Dilution manuelle d'échantillon

1. Diluer l'échantillon avec de la BSA à 7 % VITROS.
2. Procéder à une nouvelle analyse de l'échantillon.
3. Multiplier les résultats par le facteur de dilution pour obtenir une estimation de l'activité de l'alanine aminotransférase de l'échantillon avant dilution.

Dilution d'échantillon à bord du système (VITROS 5,1 FS et VITROS 250 uniquement)

Se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS pour de plus amples informations concernant la procédure de dilution à bord du système. Pour VITROS 5,1 FS, utiliser la cartouche de diluant VITROS Chemistry Products FS N° 2 pour la dilution.

Calibrage

Échantillons de calibrage nécessaires

Jeu d'échantillons de calibrage VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 3

Préparation, manipulation et conservation des échantillons de calibrage

Se reporter au feuillet technique du jeu d'échantillons de calibrage VITROS Calibrator Kit 3.

Méthode de calibrage

Se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.

Quand calibrer

Calibrer :

- quand le numéro de lot des plaques change ;
- après une opération de maintenance, telle que le remplacement d'une pièce importante du système ;
- lorsque la législation en vigueur dans le pays l'impose ;
  - Aux États-Unis, par exemple, la réglementation CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) impose un calibrage ou une vérification du calibrage tous les six mois au minimum.

Il peut également être nécessaire de calibrer le dosage VITROS ALT :

- si les résultats du contrôle de qualité sont régulièrement en dehors des limites acceptables ;
- après certaines interventions de maintenance.

Pour plus d'informations, se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.

Calculs

Une vitesse de variation de la réflectance est calculée d'après des lectures séquentielles de réflectance de la plaque à 340 nm sur la période d'incubation définie. Cette vitesse est utilisée par le modèle de calibrage de dosage enzymatique cinétique intégré au logiciel pour calculer l'activité enzymatique. Une fois qu'un calibrage a été effectué sur chaque lot de plaques, l'activité de l'alanine aminotransférase dans les échantillons à tester peut être déterminée à partir de la vitesse de variation de la réflectance mesurée pour chaque plaque à tester.

Validité d'un calibrage

Les paramètres de calibrage sont automatiquement évalués par le système de chimie clinique VITROS contre une série de paramètres de qualité, qui sont présentés en détail sur l'écran Coefficients et Limites (pour VITROS 5,1 FS, voir l'écran Vérification des données de dosage). La non conformité aux paramètres de qualité prédéfinis entraîne l'échec du calibrage. Le rapport de calibrage doit être utilisé conjointement avec les résultats de contrôle de qualité pour déterminer la validité du calibrage.

Gamme de linéarité du système

Gamme de linéarité du système pour ALT

Unités conventionnelles et SI (U/L)	Autres unités (µkat/L)
3–1000	0,05–16,70

Pour les échantillons hors gamme, se reporter à la section « Dilution des échantillons ».

Traçabilité du calibrage

Les valeurs affectées au jeu d'échantillons de calibrage VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 3 pour l'alanine aminotransférase sont dérivées de la méthode de dosage de l'alanine aminotransférase recommandée par l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC),[8] adaptée à un système centrifuge à 37 °C.

Contrôle de qualité

Recommandations concernant la procédure

AVERTISSEMENT : ***Manipuler les matériaux de contrôle de qualité comme tout produit biologique potentiellement contaminant.***

- La concentration du matériau de contrôle doit être choisie en fonction de la gamme clinique du test pour lequel il est employé.
- Analyser les matériaux de contrôle de qualité de la même manière que des échantillons de patients, avant ou durant le traitement de ces derniers.
- Pour vérifier les performances du système, analyser les matériaux de contrôle :
  - après le calibrage ;
  - conformément à la législation locale en vigueur ou au moins une fois par jour le jour où le dosage est réalisé ;
  - après certaines interventions de maintenance. Se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.
- Si les résultats des contrôles ne sont pas compris dans la gamme jugée acceptable par le laboratoire, en rechercher la cause avant de décider de générer les comptes rendus des résultats patients.
- Pour prendre connaissance des recommandations générales en matière de contrôle de qualité, consulter le document *Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline-Second Edition*[9] ou autres directives officielles.
  Pour plus d'informations, se reporter au mode d'emploi du système de chimie clinique VITROS utilisé.

Choix du matériau de contrôle de qualité

IMPORTANT : *Il est conseillé d'utiliser les contrôles VITROS Performance Verifier sur les systèmes de chimie clinique VITROS. Avant d'utiliser d'autres matériaux de contrôle disponibles sur le marché, vérifier leur compatibilité avec ce dosage.*

- Les matériaux de contrôle autres que les VITROS Performance Verifiers peuvent donner des résultats différents comparés à ceux obtenus par d'autres méthodes de dosage de l'alanine aminotransférase si :
  - ils ne proviennent pas d'une matrice humaine véritable,
  - ils contiennent de fortes concentrations de conservateurs, stabilisants ou autres additifs non physiologiques.
- L'activité enzymatique peut également varier suivant l'origine de l'enzyme, la température du diluant et le temps d'activation durant la reconstitution.
- Ne pas utiliser de matériaux de contrôle stabilisés avec de l'éthylène glycol.

Préparation et conservation des matériaux de contrôle de qualité

Se reporter au feuillet technique des matériaux de contrôle VITROS Chemistry Products Performance Verifier I et Performance Verifier II ou à toute autre documentation fournie par le fabricant du produit.

Valeurs usuelles et expression des résultats

Valeurs de référence

Ces valeurs de référence correspondent aux 95 percentiles centraux des résultats d'une étude interne portant sur 2444 adultes apparemment en bonne santé (547 femmes et 1897 hommes).

Valeurs de référence pour ALT

	Unités conventionnelles et SI (U/L)	Autres unités (µkat/L)
Adultes	13–69	0,2–1,2
Femmes	9–52	0,2–0,9
Hommes	21–72	0,4–1,2

Chaque laboratoire est tenu de vérifier la validité de ces valeurs de référence pour ses propres patients.

Unités employées et conversion

Le système de chimie clinique VITROS peut être programmé de manière à présenter les résultats ALT en unités conventionnelles, SI ou autres.

Unités employées et conversion pour ALT

Unités conventionnelles/SI	Autres unités
U/L	µkat/L (U/L × 0,0167)

Limites de la méthode

Interférences connues

Aucune substance interférente n'a été identifiée.

Autres limites

Il est à noter que certains médicaments et états cliniques peuvent modifier l'activité de l'alanine aminotransférase *in vivo*. Pour plus d'informations, se reporter à l'un des résumés publiés. [10, 11]

Performances

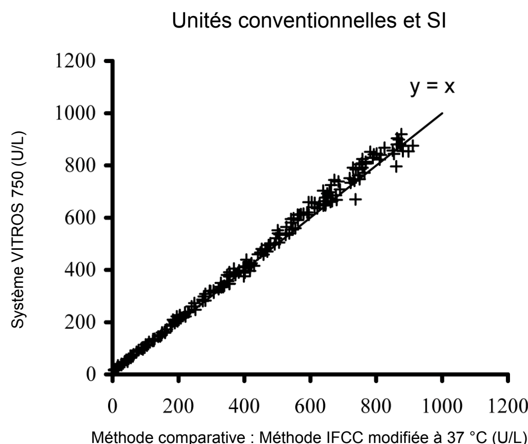
Comparaison des méthodes

Le graphique et le tableau ci-dessous montrent les résultats obtenus en comparant des échantillons analysés sur le système de chimie clinique VITROS 750 et des échantillons analysés à l'aide de la méthode comparative IFCC, [8] adaptée à un système centrifuge à 37 °C. Le dosage a été effectué conformément au protocole NCCLS EP9. [12]

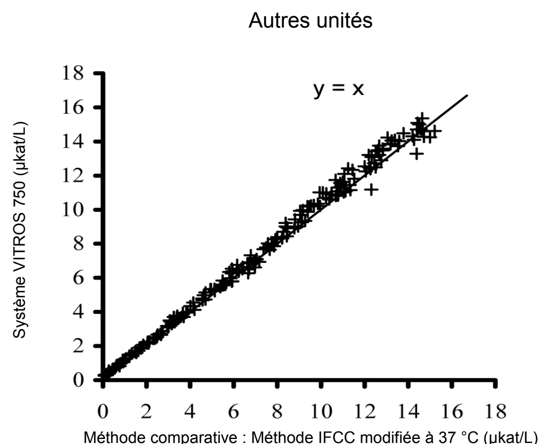
Le tableau présente également les résultats de comparaisons entre les systèmes VITROS 250 et 950 et le système VITROS 750, ainsi que de la comparaison entre le système VITROS 5,1 FS et le système VITROS 950.

Comparaison des méthodes pour ALT : Sérum

Unités conventionnelles et SI



Autres unités



Comparaison des méthodes pour ALT : Sérum

	n	Pente	Coefficient de corrélation	Unités conventionnelles et SI (U/L)			Autres unités (µkat/L)		
				Intervalle d'activité d'échantillon	Ordonnée à l'origine	Sy.x	Intervalle d'activité d'échantillon	Ordonnée à l'origine	Sy.x
Système 750/ Méthode comparative	195	1,02	0,997	4–911	+9,2	20,3	0,1–15,2	+0,15	0,34
Système 250/ Système 750	60	1,01	0,999	14–373	-0,6	2,6	0,2–6,2	-0,01	0,04
Système 950/ Système 750	122	0,99	0,999	9–988	-0,9	2,4	0,2–16,5	-0,02	0,04
Système 5,1 FS/ Système 950	134	1,00	1,000	11–886	+1,7	2,3	0,2–14,8	+0,03	0,0`4

Précision

La précision a été évaluée à l'aide de matériaux de contrôle de qualité sur les systèmes VITROS 250, 750, 950 et 5,1 FS, conformément au protocole EP5 du NCCLS. [13]

Les données présentées sont représentatives de la performance du dosage et sont données à titre indicatif. Des variables telles que la manipulation et la conservation des échantillons et des réactifs, l'environnement du laboratoire et l'entretien du système peuvent affecter la reproductibilité des résultats.

Précision pour ALT : Sérum

Système	Unités conventionnelles et SI (U/L)			Autres unités (µkat/L)			CV % du labo**	Nombre d'observ.	Nombre de jours
	Activité moyenne	ET de la journée*	ET du labora-toire**	Activité moyenne	ET de la journée*	ET du labora-toire**			
VITROS 250	37	3,5	4,1	0,6	0,06	0,07	11,2	78	20
	204	3,8	4,9	3,4	0,06	0,08	2,4	78	20
VITROS 750	34	2,0	2,7	0,6	0,03	0,05	8,1	90	23
	189	2,3	3,7	3,2	0,04	0,06	2,0	92	23
VITROS 950	34	1,7	3,2	0,6	0,03	0,05	9,6	84	23
	186	1,7	3,2	3,1	0,03	0,05	1,7	86	23
VITROS 5,1 FS	44	1,6	2,9	0,7	0,03	0,05	6,6	96	22
	187	1,9	3,5	3,1	0,03	0,06	1,9	96	22

* La précision de la journée est déterminée par la réalisation quotidienne de deux tests sur deux à trois doublons.

** La précision du laboratoire est déterminée par la réalisation de tests sur un seul lot de plaques et par un calibrage hebdomadaire.

Spécificité

Substances n'induisant pas d'interférences

Les substances répertoriées dans le tableau ci-dessous ont été testées sur les plaques analytiques VITROS ALT conformément au protocole NCCLS EP7 [14] ; aucune interférence n'a été décelée (biais < 5,5 U/L) pour la concentration indiquée.

Substances n'interférant pas avec ALT

Composé	Concentration	
AST	200 U/L	200 U/L
Acide ascorbique	3 mg/dL	170 µmol/L
Bilirubine	40 mg/dL	684 µmol/L
Éthanol	300 mg/dL	65 mmol/L

Composé	Concentration	
Glutathion	1 mg/dL	33 µmol/L
Intralipid	800 mg/dL	8 g/L
Acide salicylique	35 mg/dL	2,5 mmol/L

Bibliographie

1. Tietz NW (ed). *Fundamentals of Clinical Chemistry*. ed. 3. Philadelphia: WB Saunders; 369–371; 1987.
2. NCCLS. *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Diseases Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissue; Approved Guideline*. NCCLS Document M29 (ISBN 1-56238). NCCLS, Wayne, PA 19087; 1997.
3. Calam RR. Specimen Processing Separator Gels: An Update. *J Clin Immunoassay*. 11:86–90; 1988.
4. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. Washington D.C.: AACC Press; 3–7; 1993.
5. NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture*. NCCLS Document H3. Wayne, PA: NCCLS; 1991.
6. NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture*. NCCLS Document H4. Wayne, PA: NCCLS; 1991.
7. *Clinical Laboratory Handbook for Patient Preparation and Specimen Handling*. Fascicle VI: Chemistry/Clinical Microscopy. Northfield, IL: College of American Pathologists; 1992.
8. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3. IFCC Method for Alanine Aminotransferase. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*. 24:481; 1986.
9. NCCLS. *Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline-Second Edition*. NCCLS Document C24. Wayne, PA: NCCLS; 1999.
10. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. ed. 4. Washington D.C.: AACC Press; 1995.
11. Friedman RB, Young DS. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*. Washington, D.C.: AACC Press; 1990.
12. NCCLS. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline*. NCCLS Document EP9. Wayne, PA: NCCLS; 1995.
13. NCCLS. *User Evaluation of Precision Performance with Clinical Chemistry Devices*. NCCLS Document EP5. Wayne, PA: NCCLS; 1992.
14. NCCLS. *Interference Testing in Clinical Chemistry*. NCCLS Document EP7. Wayne, PA: NCCLS; 1986.

Légende des symboles

Les symboles suivants ont pu être utilisés sur l'étiquette de ce produit.

	Ne pas réutiliser		Conserver à une température égale ou inférieure à		Haut
	À utiliser avant la date de péremption (année-mois-jour)		Conserver à une température égale ou supérieure à	SI	Unités SI
LOT	Numéro de lot		Conserver à une température comprise entre	CONV	Unités conventionnelles
SN	Numéro de série		Consultez le feuillet technique		Valeur
REF	Référence catalogue ou code produit	Xi	Irritant		Gamme
	Attention: consulter le feuillet technique	Xn	Nocif		Intervalle des moyennes
	Fabricant	T	Toxique		Moyenne
EC REP	Mandataire dans l'Union européenne		Attention, fragile		Révisé
Σ	Suffisant pour « n » dosages		Tenir au sec		Remplace
IVD	Pour diagnostic *in vitro*		Der Grüne Punkt (Point Vert). Le fabricant suit certaines règles de mise au rebut pour les déchets des matériaux d'emballage	σ	Estimation ET du laboratoire

Historique des révisions

Date de révision	Version	Description des modifications techniques*
2004-09-13	3.0	• Ajout du système VITROS 5,1 FS • Spécificité – ajout de l'intralipid, mise à jour de la bilirubine • Légende des symboles – mise à jour des données
2003-07-28	2.0	• Nouvelle organisation et sections conformes à la Directive sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (IVD) • Valeurs de référence – chez l'adulte : valeurs corrigées • Limites de la méthode – suppression du texte concernant les fortes concentrations en protéines totales • Comparaison des méthodes – mise à jour des comparaisons pour le système 750 et des graphiques • Précision – mise à jour des données concernant le système 750 • Bibliographie – ajout des références 2, 3, 12, 13, 14
2002APR19	1.0 – En anglais seulement	Nouveau format, techniquement équivalent à 11/96.

* Les barres verticales dans la marge signalent l'endroit du texte où a été ajouté un amendement technique par rapport à la version précédente du document.

Lors du remplacement de ce feuillet technique, signer et dater ci-dessous, puis archiver conformément à la législation locale en vigueur ou aux directives du laboratoire.

________________________________ ________________

Signature Document caduc le :





Ortho-Clinical Diagnostics
Johnson & Johnson
50-100 Holmers Farm Way
High Wycombe
Buckinghamshire
HP12 4DP
United Kingdom



Ortho-Clinical Diagnostics
a Johnson & Johnson company



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.
100 Indigo Creek Drive
Rochester, NY 14626-5101